



BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX)



L007446 • Rev. 10 • Aprile 2015

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

L'agar cioccolato II è un terreno arricchito per la coltivazione delle specie *Neisseria* e *Haemophilus*.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Con l'ausilio di un'ansa calibrata da 0,01 mL, inoculare le superfici slant usando diluizioni 10^{-1} di colture di 18 – 24 h di **Trypticase Soy Broth**.
 - b. Incubare le provette a 35 ± 2 °C con i tappi non completamente avvitati, in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica.
2. Esaminare la crescita nelle provette dopo 18 – 24 h e 48 h.
3. Risultati attesi

Organismi di controllo (ceppi ATCC)

**Neisseria gonorrhoeae* (43069)..... Crescita
**Haemophilus influenzae* (10211)..... Crescita
Neisseria meningitidis (13090)..... Crescita
Streptococcus pneumoniae (6305) Crescita

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

N.B.: Gli utenti dovranno effettuare un monitoraggio, secondo CLSI M22-A3.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette rappresentative non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Lo slant agar cioccolato II è un terreno migliorato per l'uso in procedure qualitative per la coltivazione di microrganismi esigenti, in particolar modo le specie *Neisseria* e *Haemophilus*, da una varietà di campioni clinici.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Carpenter and Morton hanno descritto un terreno migliorato per l'isolamento del gonococco in 24 h.¹ L'efficienza di questo terreno, GC Agar arricchito con emoglobina e concentrato di lievito, è stata dimostrata in uno studio su dodici terreni e successivamente nell'impiego di tali microrganismi.² BBL ha apportato ulteriori miglioramenti al terreno sostituendo il concentrato di lievito con **IsoVitaleX Enrichment**, un supplemento chimicamente definito, sviluppato specificamente per agevolare la crescita dei gonococchi, sebbene presenti una vasta gamma di applicazioni per diversi microrganismi, tra cui *Haemophilus*.³⁻⁵ Grazie all'accurata selezione e ai test preliminari condotti sulle materie prime, l'agar cioccolato II favorisce la crescita dei gonococchi e delle specie *Haemophilus*.

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Agar cioccolato II contiene una base migliorata di GC II Agar, emoglobina bovina e **IsoVitaleX Enrichment**. La base di GC contiene sostanze nutritive azotate sotto forma di caseina e peptoni di carne, tampone fosfato per mantenere il pH e amido di granturco, che neutralizza gli acidi grassi tossici eventualmente presenti nell'agar. L'emoglobina fornisce il fattore X (emina) per le specie *Haemophilus*. **IsoVitaleX Enrichment** è un terreno definito che fornisce il fattore V (nicotinamide-

adenin dinucleotide, NAD) per le specie *Haemophilus* e vitamine, amminoacidi, coenzimi, destrosio, ione ferro trivalente e altri fattori che favoriscono la crescita delle forme patogene di *Neisseria*.

VII REAGENTI

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	7,5	g
Peptone di carne selezionato	7,5	g
Amido di granturco	1,0	g
Fosfato dipotassico	4,0	g
Fosfato monopotassico	1,0	g
Cloruro di sodio	5,0	g
Agar	12,0	g
Emoglobina	10,0	g
IsoVitaleX Enrichment	10,0	mL

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

IsoVitaleX Enrichment

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Vitamina B ₁₂	0,01	g
L-Glutamina	10,0	g
Adenina	1,0	g
Cloridrato di guanina	0,03	g
Acido <i>p</i> -aminobenzoico	0,013	g
Nicotinamide-adenin dinucleotide	0,25	g
Pirofosfato di tiamina	0,1	g
Nitrato di ferro	0,02	g
Cloridrato di tiamina	0,003	g
Idrocloruro di L-cisteina	25,9	g
L-cistina	1,1	g
Destrosio	100,0	g

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di performance.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

Durante tutte le procedure, adottare tecniche asettiche e seguire le precauzioni standard contro i rischi microbiologici. Dopo l'uso, le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 8 °C. Evitare di congelare e surriscaldare.

Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto

Non usare le provette se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni specifiche, consultare la documentazione appropriata.^{6,7} Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

Chocolate II Agar Slants

Materiali necessari ma non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test

Adottare tecniche asettiche.

1. Gli slant di agar cioccolato II vengono utilizzati principalmente per la coltivazione ed il mantenimento di colture pure. Gli slant devono essere inoculati con un'ansa completa di coltura.
2. Non appena possibile, posizionare la coltura in ambiente aerobico arricchito con anidride carbonica.
3. Incubare a 35 ± 2 °C ed esaminare dopo un'incubazione di una notte e successivamente dopo circa 48 h.

N.B. Le subcolture per l'identificazione di *N. gonorrhoeae* devono essere effettuate entro 18 – 24 h.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di Controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità in uso nel laboratorio. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione CLSI in merito.

X RISULTATI

La morfologia tipica delle colonie su agar cioccolato II è la seguente.

<i>Haemophilus influenzae</i>	Di piccole dimensioni (1 mm), umida, perlacea con il caratteristico "odore di topo"
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Di piccole dimensioni, da incolore a bianco-grigiastro, mucoide
<i>Neisseria meningitidis</i>	Di dimensioni medio-grandi, grigio-blu, mucoide
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colonie di piccole dimensioni, lucide, dal profilo appiattito, con perdita del colore verde sul terreno

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

L'agar cioccolato II è un terreno arricchito sul quale la crescita può essere superata dallo sviluppo di batteri indesiderati o non patogeni.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.⁶⁻⁸

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di slant Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and **IsoVitaleX**). Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati con 0,01 mL di una diluizione 10^{-1} di colture in **Trypticase** Soy Broth di 24 h di *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) e *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211). Le provette vengono incubate a 35 ± 2 °C con i tappi non completamente avvitati, in atmosfera aerobica arricchita con anidride carbonica. Dopo 18 – 24 h di incubazione, per tutti i microrganismi testati viene osservata una crescita sugli slant da moderata a sostenuta.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat. Descrizione

295872	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), Conf. da 10 provette misura K
299452	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), Cont. da 100 provette misura K

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of BBL products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of Haemophilus species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD